



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

PERFIL LABORATORIAL DE PACIENTES COM HIV
ACOMPANHADOS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE
PÚBLICA (LACEN) EM ARACAJU/SERGIPE

ARIANNY FERRO SIMÕES
ANA CAROLINA SILVEIRA SOARES NASCIMENTO

São Cristovão- SE
2016

PERFIL LABORATORIAL DE PACIENTES COM HIV ACOMPANHADOS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA (LACEN) EM ARACAJU/SERGIPE

RESUMO

Há cerca de trinta anos sabe-se da existência do vírus HIV como causa da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), cuja transmissão pode dar-se por via sexual, vertical (maternal), ou sanguínea. No Brasil, desde o início da epidemia de SIDA ou AIDS até o período de junho do ano de 2015, registrou-se cerca de 798.366 casos da doença, mostrando uma tendência linear no aumento da infecção em regiões menos desenvolvidas como no Norte-Nordeste com uma prevalência entre os mais jovens e os idosos, mas segundo a UNAIDS em todo o país a prevalência é entre 15 e 49 anos. O maior desafio enfrentado pelo corpo clínico ao tratar os pacientes soropositivos é o aparecimento das resistências à terapia com os anti-retrovirais (TARV), que pode levar ao agravamento da doença com evolução ao óbito destes pacientes. Visto isso, este estudo visa avaliar a incidência de soropositivos para o vírus HIV no estado de Sergipe e sua adesão ao tratamento antirretroviral, com ênfase nas resistências as TARV, caso existam. Para isso, foi realizado um estudo com delineamento descritivo, observacional, retrospectivo baseado na coleta de dados a partir de 40 prontuários, oriundos do Sistema de Controle de Exames Laboratoriais (Siscel) e Sistema de Genotipagem (Sisgeno), de soropositivos para o HIV. Do total de prontuários analisados, vinte e um indivíduos (55%) pertenciam ao sexo masculino e dezenove indivíduos (48%) ao sexo feminino. A média de idade dos pacientes foi de 37 anos. Em relação à contagem de linfócitos T CD4+ e CD8+, observamos que os linfócitos T CD8+ predominam em número em relação aos T-CD4+, em ambos os sexos. Na avaliação dos exames de genotipagem, verificou-se que a ocorrência de resistência aos antirretrovirais foi maior no sexo masculino, sendo que estes dados são corroborados pela média maior de carga viral nos homens em relação as mulheres. Visto isso, podemos concluir que os homens são mais susceptíveis as complicações como resistência, imunossupressão, as quais são induzidas pela falha da TARV, sendo necessárias ações com foco neste paciente, visando a melhoria de sua qualidade de vida.

ABSTRACT

The existence of the HIV virus as the cause of the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) has been known for some thirty years, and can be transmitted through sexual, vertical (maternal) or blood. In Brazil, from the beginning of the AIDS or AIDS epidemic until June 2015, there were some 798,366 cases of the disease, showing a linear trend in the increase of infection in less developed regions such as the North-Northeast with prevalence among the young and the elderly. The greatest challenge faced by the clinical staff in seropositive patients is the appearance of resistance to antiretroviral therapy (ART), which may lead to worsening of the disease with evolution to the death of these patients. Considering this, this study aims to evaluate the incidence of seropositives for the HIV virus in the state of

Sergipe and its adherence to antiretroviral treatment, with an emphasis on resistance to ART, if any. For this, we conducted a descriptive, observational, retrospective study based on the collection of data from 40 medical records, from the System of Control of Laboratory Tests (Siscel) and Genotyping System (Sisgeno), of HIV seropositive patients. Of the total number of records analyzed, twenty-one individuals (55%) were male and nineteen individuals (48%) were female. The mean age of the patients was 37 years. Regarding the CD4 and CD8 T lymphocyte counts, we observed that CD8 T lymphocytes predominate in number in relation to T-CD4 in both sexes. In the evaluation of the genotyping tests, it was verified that the occurrence of antiretroviral resistance was greater in males, and these data are corroborated by the higher mean viral load in males compared to females. Considering this, we can conclude that men are more susceptible to the complications such as resistance, immunosuppression, which are induced by the failure of the ART, being necessary actions with focus in this patient, aiming at the improvement of their quality of life.

RESUMEN

La existencia del virus del VIH como causa del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) se conoce desde hace unos treinta años y puede transmitirse por vía sexual, vertical (materna) o sanguínea. En Brasil, desde el inicio de la epidemia de SIDA o SIDA hasta junio de 2015, se registraron unos 798.366 casos de la enfermedad, mostrando una tendencia lineal en el aumento de la infección en regiones menos desarrolladas como el Norte-Nordeste con Prevalencia entre los jóvenes y los ancianos. El mayor reto al que se enfrenta el personal clínico en pacientes seropositivos es la aparición de resistencia a la terapia antirretroviral (ART), que puede conducir a un empeoramiento de la enfermedad con evolución hasta la muerte de estos pacientes. En este sentido, este estudio tiene como objetivo evaluar la incidencia de seropositivos para el virus del VIH en el estado de Sergipe y su adhesión al tratamiento antirretroviral, con énfasis en la resistencia al TAR, en su caso. Para ello, se realizó un estudio descriptivo, observacional y retrospectivo basado en la recolección de datos de 40 expedientes médicos, del Sistema de Control de Pruebas de Laboratorio (Siscel) y Sistema de Genotipificación (Sisgeno), de pacientes seropositivos para el VIH. Del total de registros analizados, veintiún individuos (55%) eran varones y diecinueve individuos (48%) eran mujeres. La edad media de los pacientes fue de 37 años. En cuanto a los recuentos de linfocitos T CD4 y CD8, se observó que los linfocitos T CD8 predominan en número en relación con T-CD4 en ambos sexos. En la evaluación de las pruebas de genotipificación, se verificó que la incidencia de resistencia antirretroviral fue mayor en varones, y estos datos se corroboran por la mayor carga viral media en varones en comparación con las mujeres. Teniendo en cuenta esto, podemos concluir que los hombres son más susceptibles a las complicaciones inducidas por el fracaso del TAR, siendo acciones necesarias con enfoque en este paciente, con el objetivo de mejorar su calidad de vida.

INTRODUÇÃO

Há cerca de trinta anos sabe-se da existência do vírus HIV como causa da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), cuja transmissão pode dar-se por via sexual, vertical (maternal), ou sanguínea. No Brasil, desde o início da epidemia de SIDA ou AIDS até o período de junho do ano de 2015, registrou-se cerca de 798.366 casos da doença, mostrando uma tendência linear no aumento da infecção em regiões menos desenvolvidas como do Norte-Nordeste com uma prevalência entre os mais jovens e os idosos⁽¹⁾.

A SIDA, por ser uma doença infecciosa que ataca o sistema imunológico, infectando os macrófagos, as células dendríticas e, principalmente, os linfócitos T, interfere na capacidade do organismo em combater infecções⁽²⁾.

Nos portadores do vírus HIV, a contagem da carga viral e das células CD4+ são parâmetros relevantes que norteiam a conduta terapêutica. Desta forma, com o advento da terapia antirretroviral, maiores são os benefícios indiscutíveis para os indivíduos com HIV/AIDS, no qual reduz os índices de mortalidade e morbidade, como também induza queda na disseminação da infecção pelo HIV-1⁽³⁾.

Sabe-se que o tratamento citado anteriormente inibe a replicação do HIV, proporcionando a redução do RNA viral e, assim, observa-se a elevação dos linfócitos CD4+, células-alvo do ataque do HIV. No entanto, os pacientes mediante o uso dos antirretrovirais, podem apresentar efeitos adversos relacionados ao tratamento⁽³⁾.

O vírus HIV ao integrar-se também ao genoma do hospedeiro, desencadeia diversas mutações, as quais afetam o tratamento, ocasionando resistência aos medicamentos antirretrovirais, e somente a análise da genotipagem, que é solicitada

aos pacientes que apresentam insucesso terapêutico, pode-se identificar o padrão genético da mutação e indicar um melhor tratamento para determinado paciente⁽⁴⁻⁵⁾.

Vale ressaltar que a genotipagem do HIV só é válida se o paciente possuir carga viral detectável, mostrando que quanto maior a carga viral do paciente em TARV (terapia antirretroviral) maior o número de mutações, sendo então realizada a troca da TARV, a fim de obter uma terapia individualizada e eficaz. Porém, quando se tem uma carga viral elevada na ausência de resistência, pode ser um indicativo de falta de adesão ao tratamento⁽⁶⁾.

Visto isto, este estudo visa avaliar a prevalência de soropositivos para o vírus HIV no estado de Sergipe e sua adesão ao tratamento antirretroviral, com ênfase nas resistências às TARV, caso existam.

METODOLOGIA

Estudo com delineamento descritivo, observacional, retrospectivo baseado na coleta de dados a partir de prontuários, oriundos do Sistema de Controle de Exames Laboratoriais (Siscel) e Sistema de Genotipagem (Sisgeno).

Local do estudo:

O estudo foi realizado nos Laboratórios de Imunologia e Biologia Molecular do Laboratório Central de Saúde Pública (Lacen), que compõe a Fundação de Saúde Parreiras Horta do Governo do Estado de Sergipe.

Laboratório Central de Saúde pública- LACEN

O Instituto Parreiras Horta foi criado em 14 de novembro de 1922 através da Lei nº 836 e inaugurado em 05 de maio de 1924, tendo como primeiro dirigente o

professor Dr. Paulo Parreiras Horta. O instituto no início da sua fundação tinha como objetivo a preparação e distribuição das vacinas antivariólica e antirrábica, como também a realização do tratamento das pessoas mordidas por animais suspeitos de raiva. Possuía laboratório de análise clínicas, bacteriológica e química além de funcionar como centro de pesquisas médicas.

Em 27 de janeiro de 1956, é vinculado à Secretaria de Estado da Saúde, como **Laboratório central de Saúde Pública – LACEN**, cuja finalidade é realizar atividades de saúde pública. Atualmente compõe-se por laboratórios de bromatologia química, toxicologia e diagnóstico ambiental, entomologia e parasitologia, qualidade e biossegurança, Redelab, laboratório de microbiologia e imunologia, laboratório de sorologia e de zoonoses.

Critérios de inclusão, exclusão e variáveis:

Como critério de inclusão no estudo foram aceitos apenas pacientes que realizaram exames de genotipagem do HIV, e respectivos exames de carga viral e contagem dos linfócitos T CD4+ e CD8+, referentes ao ano de 2015. Para os pacientes incluídos, realizou-se análise dos resultados dos exames citados acima, com o objetivo de avaliar a prevalência de pacientes com HIV que realizaram estes exames no Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe (LACEN-SE), e identificar o perfil das alterações genotípicas associadas a drogas antirretrovirais. Como critério de exclusão, não foram aceitos os pacientes que não estavam cadastrados no sistema Siscel e Sisgeno.

Coleta e análise dos dados:

Realizou-se a coleta de dados através da consulta direta de relatórios emitidos pelo sistema de resultados dos exames informatizado, no período de novembro a dezembro de 2016. Quarenta prontuários e respectivos resultados dos exames foram analisados quanto à resistência/sensibilidade dos antirretrovirais, como também se obteve informações como idade e sexo. A genotipagem do HIV é realizada através de PCR. Os dados coletados foram armazenados em banco de dados do programa Microsoft Excel e analisado pelo programa de estatística Bioestat 4.0.

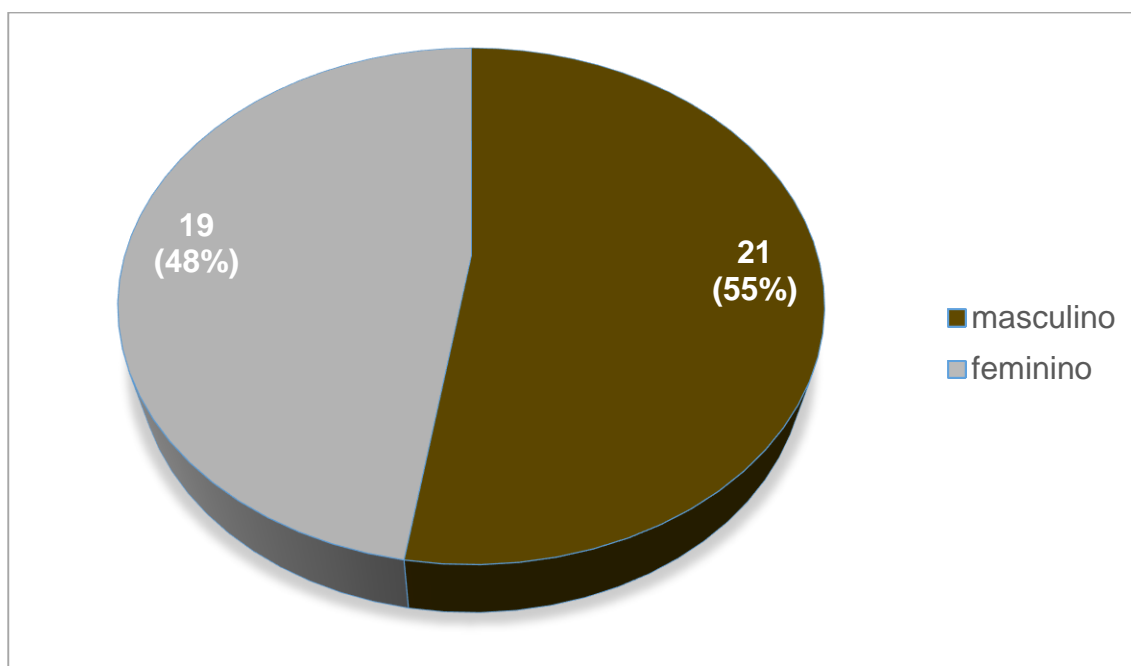
Aspectos éticos

Este projeto de pesquisa foi elaborado de acordo com as “Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos” e previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, com o parecer nº 0261.0.107.000.16, que é credenciado junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sendo necessário o termo de consentimento para utilização de dados.

RESULTADOS

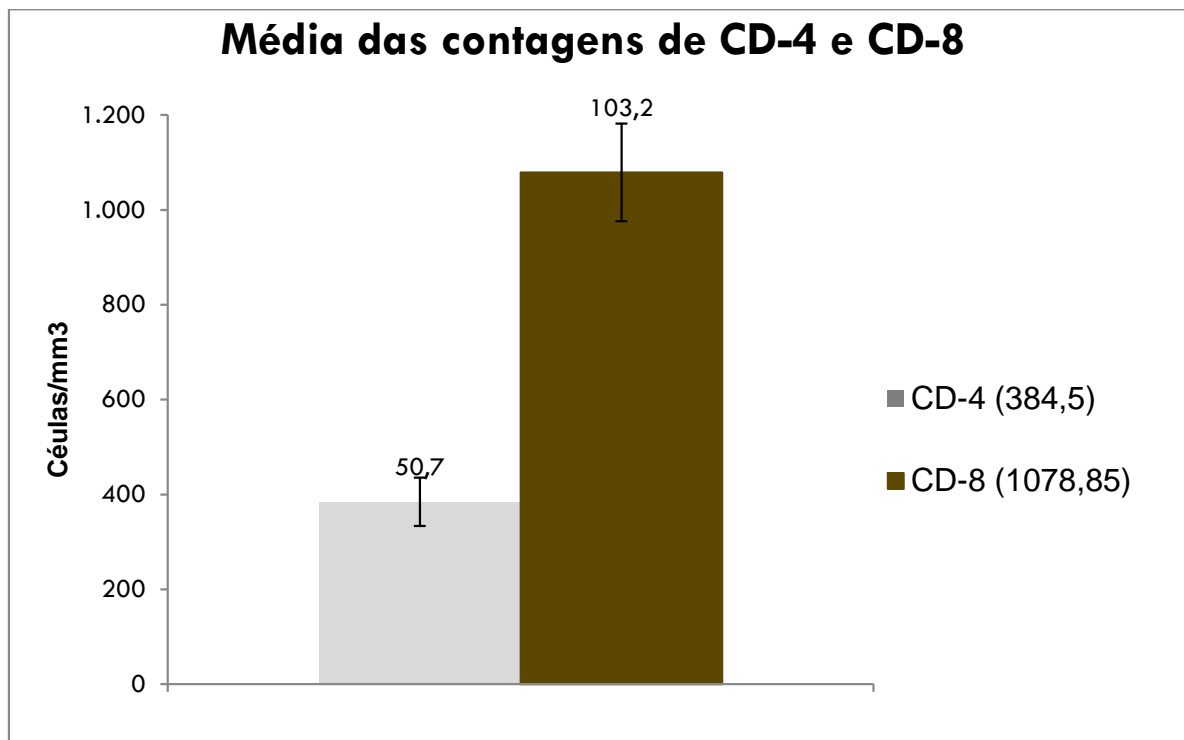
Foram analisados 40 prontuários e respectivos resultados dos exames dos indivíduos infectados pelo HIV, considerando as características sociais, bem como características laboratoriais.

Figura 1: Distribuição dos portadores de HIV-1 incluídos no estudo de acordo com o sexo.



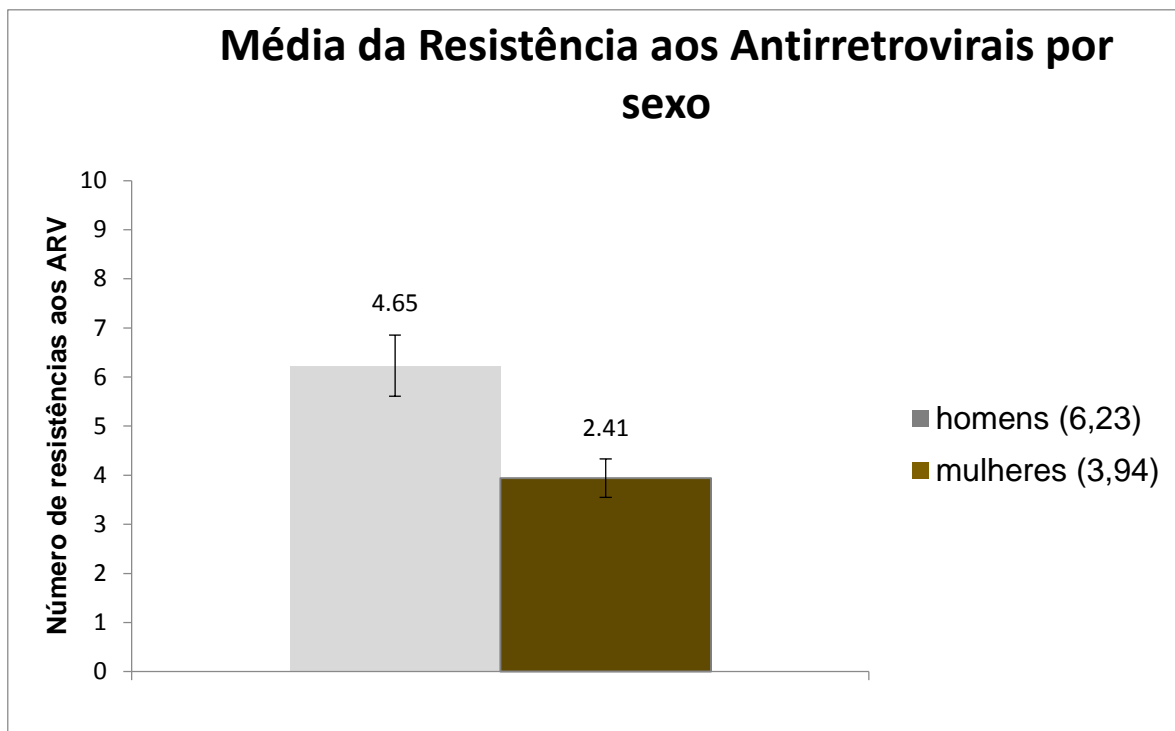
Do total de prontuários analisados, vinte e um indivíduos (55%) pertenciam ao sexo masculino e dezenove indivíduos (48%) ao sexo feminino, mostrando que a prevalência de pacientes masculinos portadores do HIV é maior em relação a pacientes femininos (Figura 1). A média de idade foi de 37 anos, variando de 3 a 67 anos de idade.

Figura 2: Média das linhagens dos Linfócitos (CD-4 e CD-8) de acordo com os respectivos resultados dos exames de cada paciente.



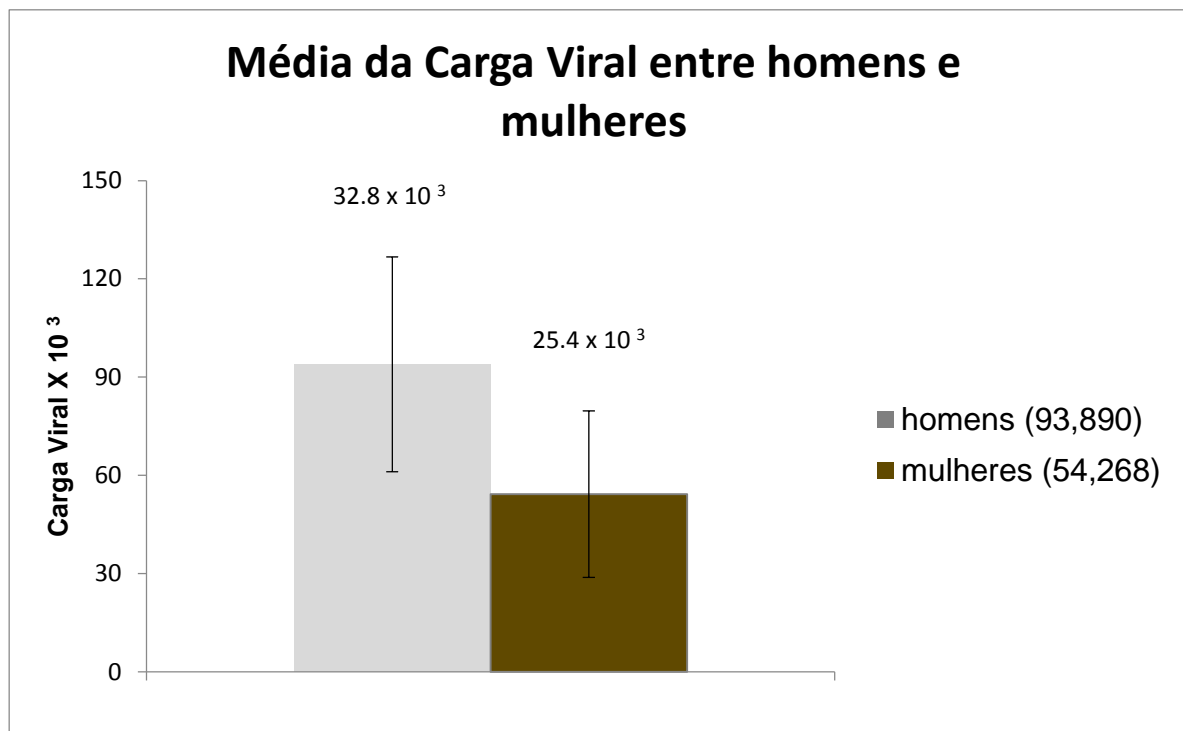
Em relação a contagem de linfócitos T CD4+ e CD8+, pode-se observar que de todos os pacientes analisados, o resultado da contagem de linfócito T CD8+ foi maior que o linfócito T CD4+ em ambos os sexos. A média de Linfócitos T CD4+ foi de $384,5 \pm 50,7$ células/mm³, e de linfócitos T CD8+ foi de $1078,85 \pm 103,2$ células/mm³, com CV (coeficiente de variância) de 83,42% para TCD4+ e 60,52% para TCD-8. Os valores de p são menores que 0,0001, onde sugere que houve diferença significativa entre os dois grupos analisados. (Figura 2).

Figura 3: Avaliação da resistência aos antirretrovirais (ARV) por sexo.



De acordo com os resultados encontrados através dos exames de genotipagem, verificou-se que a ocorrência de resistência aos antirretrovirais é maior no sexo masculino, mostrando que houve diferença estatística significativa ($f=3,6919$ e $p=0,0591$). A média de resistência aos ARV no sexo masculino é de $6,23 \pm 4,65$ e para o sexo feminino foi de $3,94 \pm 2,41$. (Figura 3)

Figura 4: Média da carga viral em ambos os sexos.



Nos resultados encontrados em relação aos exames de genotipagem para a carga viral observou-se que a média da carga viral no sexo masculino foi de 93.890 cópias/mm³, com erro padrão médio de 32,845 e para o sexo feminino foi de 54.268 cópias/mm³, com erro padrão médio de 25,426. Sendo os valores de p menor que 0,001 e $\eta^2 = 0,60$ há diferença significativa entre os grupos, indicando que a carga viral para os dois grupos são diferentes, sendo maior nos homens que nas mulheres estudadas. (Fig.4)

DISCUSSÃO

Neste estudo, observou-se que os dados epidemiológicos dos pacientes condiz com o perfil da epidemia do HIV/AIDS no Brasil, ou seja, a maior prevalência de portadores do HIV ocorre em homens com média de faixa etária acima de trinta anos⁽⁷⁾.

Para muitos autores, isto ocorre devido à baixa procura dos homens aos serviços de saúde torná-los tão vulneráveis a determinadas doenças que podem ser prevenidas, a exemplo da AIDS, sendo associado a isso a não adesão ao tratamento. Outro fator determinante é o não uso do preservativo (tido como sensação de “falta de proteção”) juntamente com a multiplicidade de parceiras, atrelados a aspectos socioculturais, comportamentais, dificultando a prevenção, aumento no risco de disseminação do vírus HIV e consequente diagnóstico⁽⁸⁻⁹⁻¹⁰⁾.

Vale ressaltar que a incidência do vírus HIV em mulheres vem aumentando, o que caracteriza a feminização da epidemia do HIV/AIDS; mas ainda existem poucos estudos relatando isso. Somado a isso, fatores anatômicos entre homens e mulheres, dificuldade na negociação do uso do preservativo nas relações sexuais, resposta diferente a infecção do HIV, condição socioeconômica, possível maior recebimento da carga viral no momento da infecção nas mulheres, fez com o que os estudiosos avaliassem mais o porquê desse aumento ao gênero ⁽¹¹⁾.

Os linfócitos T são células responsáveis pela imunidade celular do indivíduo e que pode ser classificados em três grupos: T CD4+, T CD8+ e Linfócito *Natural Killers* (NK). Os T CD4+ são os primeiros a entrarem em contato com o HIV por expressar na sua superfície um marcador fenotípico, denominado CD4 que possui maior afinidade pelo vírus do HIV. Os T CD8+, são linfócitos citotóxicos que atuam

na vigilância imunológica, sendo responsáveis pela eliminação de células infectadas pelo HIV ⁽¹²⁻¹³⁾.

A ativação crônica do sistema imune é considerada atualmente como ponto chave para depleção das células T CD4+ ⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Outro fato que justifica o baixo índice de células T CD4+ é o esgotamento massivo dessas células devido a elevada carga viral infectante ⁽¹⁶⁾, o que justifica os resultados encontrados onde os valores de CD4+ estão baixos e a carga viral está muito elevada, significando que a alta concentração do vírus no sistema imune causa apoptose dos linfócitos T CD4+. Mas podemos observar também que os valores de T CD8+ estão elevados, desta forma podemos concluir que isso ocorre devido ao papel do linfócito T CD8+ em eliminar as células que foram infectadas pelo HIV ⁽¹²⁻¹³⁾.

Alguns estudos demonstram que a fração CD38+ das células T CD8+, aumenta progressivamente com o avanço da doença e que este aumento está associado com declínio de células T CD4+ totais e o aumento da carga viral plasmática ⁽¹⁶⁾.

Desde o advento da terapia dos antirretrovirais, é indiscutível para o sucesso deste tratamento, o entendimento dos processos que desencadeiam as mutações do vírus HIV, onde em muitos pacientes ocorre resistências à drogas antirretrovirais, e conseqüentemente uma falha terapêutica⁽¹⁷⁾.

No estudo, pode-se observar que a resistência aos antirretrovirais era maior nos homens. Isto pode estar relacionado com a exposição intensa aos antirretrovirais, como também há um período longo com esquemas terapêuticos subótimos, que gera um acúmulo de mutações, conseqüentemente mudanças frequentes na terapia antirretroviral. Como nesse estudo não obtivemos os dados do

tempo de tratamento de cada paciente, não se pode afirmar se essa resistência aos antirretrovirais se dá por esse fato⁽¹⁸⁾.

Em um estudo feito para avaliar a resistência genotípica do HIV-1, não especificando a prevalência de acordo com o sexo, observou-se que o surgimento das mutações que levam a resistência aos antirretrovirais deve-se a capacidade de erro da enzima transcriptasereversa. Nesse mesmo estudo, um fator para entender a resistência aos antirretrovirais é a ocorrência com maior frequência na classe dos NTRI (inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeos) e NNTRI (inibidores da transcriptase reversa análogos de não- nucleotídeos) em comparação ao Inibidores de Protease, onde este último precisa de mais mutações para gerar a resistência⁽¹⁹⁾.

Em relação aos resultados obtidos na pesquisa de acordo com a carga viral, houve diferença significativa dos valores da carga viral para os pacientes.

Sabendo que carga viral é a medida da quantidade vírus circulante, dos quarenta pacientes analisados, as mulheres foram as que apresentaram valores menores de carga viral. Segundo Overbaugh, podemos associar com o fato das mulheres possuírem maior capacidade de controlar o vírus naturalmente.

As mulheres possuem mais células T CD4+, e essas células são as responsáveis por reconhecer e atacar o vírus e uma resposta imune mais forte, tal evento induz a mutar o vírus de um tipo para outro, confundindo as células de defesa do organismo⁽²⁰⁾.

CONCLUSÃO

O estudo permitiu o aprofundamento em relação a resistência aos antirretrovirais, de modo que a avaliação do mesmo é necessário para se obter melhora terapêutica e melhor adesão ao tratamento. Notou-se que os parâmetros clínicos analisados (carga viral, contagem de linfócitos e presença de mutações) devem sempre estar correlacionados para verificar se aquele tratamento antirretroviral está sendo o mais adequado para determinado paciente. Foi possível notar que a prevalência de portadores HIV-1 ocorreu em maior número em pacientes do sexo masculino, bem como maior prevalência de resistência aos antirretrovirais e quantificação da carga viral.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico AIDS e DST. Brasília, 2015.
2. Lazzarotto AR, Deresz LF, SprinzE. HIV/AIDS e Treinamento Concorrente: a Revisão Sistemática. *RevBrasMed Esporte*, 2010,16 (2):149-154.
3. Carvalho LMN. Resistência Secundária Aos Antirretrovirais Utilizados Para Tratamento Em Pacientes Com Hiv/Aids: Perfil Da Genotipagem Em Pacientes Atendidos No Instituto De Doenças Instituto Oswaldo Cruz. Teresina. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz; 2015.
4. WestergaardRP. Longitudinal changes in engagement in care and viral suppression for HIV-infected injection drug users. *AIDS (London, England)*, 2013, 27 (16), 2559.
5. Tavares ICF. Perfil Genotípico de Resistência do HIV em pacientes com falha virológica ao esquema antirretroviral de primeira linha na coorte de pacientes com HIV/AIDS do Instituto de PesquisaClínica Evandro Chagas-Fiocruz. Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infeciosas) - Fundação Oswaldo Cruz; 2013.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo hiv em adultos. Brasília, 2015.
7. Unaid, Global Report, 2015.

8. Domingues PS. A representação social do ser homem para homens heterossexuais e a vulnerabilidade para o HIV/AIDS. Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Enfermagem, Saúde e Sociedade) - 2014.
9. Simão WS. Prevalência do HIV em homens e mulheres diagnosticados em um laboratório de análises clínicas no período de 2010 a 2014, na cidade de Tubarão, SC, 2015.
10. Junior JSM, Gomes R, Nascimento EF. Masculinidade hegemônica, vulnerabilidade e prevenção ao HIV/AIDS. *Ciência e Saúde Coletiva*, 2012, 17 (2):511-520.
11. Cabral JVB, Santos SSF, Oliveira CM. Perfil Sociodemográfico, Epidemiológico E Clínico Dos Casos De Hiv/Aids Em Adolescentes No Estado De Pernambuco. *Revista Uniara*, 2015, 18:1.
12. Peakman M, Vergani D. Imunologia básica e clínica. 1ª. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro: 1999.
13. Santos FF, Pereira FB, Silva CLO. Características imunológicas e virológicas e as variáveis flexibilidades (FLEX) e força de resistência abdominal (FRA) de crianças e adolescentes portadores de HIV/AIDS em uso de TARV. *Revista Brasileira Med Esporte*, 2013, 19, 1: 40.
14. Paiardini M, Muller-Trutwin M. HIV-associated chronic immune activation. *Immunological reviews*, 2013, 254, 1.
15. Silva, MLG. Caracterização molecular do mecanismo de morte celular programada via TNF ALFA/ TNFR1 na resposta ao tratamento antirretroviral na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1). Pernambuco. Dissertação (Mestrado) - 2016.

- 16.Ferreira VOMF. Influência do polimorfismo do gene IFNL3 nas respostas imunológicas e virológicas de pessoas vivendo com HIV-1 e sua relação com ativação de células NK. Pernambuco. Tese (Doutorado) - 2014.
- 17.Gregson J, Kaleebu P, Marconi VC, et.al. Occult HIV-1 drug resistance to thymidine analogues following failure of first-line tenofovir combined with a cytosine analogue and nevirapine or efavirenz in sub Saharan Africa: a retrospective multi-centre cohort study,*Lancet Infectious Diseases*, 2016.
- 18.Boery RNSO, Santos NA, Boery EN. Fatores Que Interferem Na Adesão DosPortadores De Aids Aos Antirretrovirais, Jequié,Bahia, Brasil. *Rev.Saúde.Com*,2015,11(2):233-242.
19. Veloso ACR, Fink HTK, Lima LMP.Resistência genotípica do Vírus da ImunodeficiênciaHumana tipo 1 aos antirretrovirais. *Com. Ciências Saúde*. 2010;21(1):49-60.
- 20.Overbaugh J. Biology of HIV-1 Transmission. In *epidem.biol HIV infec*.2016; 7(1):74-75.